Aus der Hals-Nasen-Ohrenklinik und Poliklinik
der Freien Universität Berlin.
Komm. Direktor: Professor Dr. med. Klaus Walter Hommerich

Untersuchung des Einflusses von Vitamin A auf die durch Hammelerythrozyten induzierte Immunantwort bei der Maus.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der ehem.
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hans-Joachim Mann
aus Hamburg

1970

Aus der Hals-Nasen-Ohrenklinik und Poliklinik
der Freien Universität Berlin.
Komm. Direktor: Professor Dr. med. Klaus Walter Hommerich

Untersuchung des Einflusses von Vitamin A auf die durch Hammelerythrozyten induzierte Immunantwort bei der Maus.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der ehem.
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hans-Joachim Mann
aus Hamburg

ehem. Dekan: Professor Dr. med. Herbert Lax

Referent: Professor Dr. med. Tibor Diamantstein

Korreferent: Professor Dr. med. Günter Stüttgen

UNIV. LEIDEN BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der ehem. Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 16. 9. 1970

UNTERSUCHUNG DES EINFLUSSES VON VITAMIN A AUF DIE DURCH HAMMELERYTHROZYTEN INDUZIERTE IMMUNANTWORT BEI DER MAUS.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546510_0101

INHALTSVERZEICHNIS SEITE

1. Einleitung	3
Aufgabenstellung	5
2. Experimenteller Teil	6
2.1. Methoden	6
2.1.1 Tiermaterial	6
2.1.2 Immunisierung	6
2.1.3. Applizierung von Vitamin A	7
2.1.4 Bestimmung der Anzahl der immunadhaerenzaufweisenden Milzzellen - RBZ	7
Prinzip	7
Durchführung der Bestimmung	8
Berechnung	1o
3. Ergebnisse und Diskussion	11
3.1 Vorversuche	11
3.2 Untersuchung des Einflusses von Vitamin A-Palmitat auf die Immunozytenzahl	15
3.3 Diskussion	24
4. Zusammenfassung	27
5. Literaturverzeichnis	28

1. EINLEITUNG

Über die Rolle der Makrophagen bei der Induktion der Immunantwort ist man sich bis heute nicht einig. Es besteht Uneinigkeit in zwei Richtungen (18):
1) ob die Makrophagen überhaupt für die Induktion der Immunantwort notwendig sind, und
2) wenn sie notwendig sind, auf welche Art und Weise sind sie an der Induktion der Immunantwort beteiligt.

Es gibt sowohl Experimente, die für eine Beteiligung der Makrophagen bei der Antikörperbildung (11, 24, 25) sprechen wie auch Befunde, die es zweifelhaft machen (21, 26). Es sind verschiedene experimentell mehr oder weniger gut belegte Hypothesen (5, 9, 12, 15, 19) aufgestellt worden, die sich mit dem Mechanismus der Rolle der Makrophagen bei solchen Vorgängen beschäftigen.

Gelangt ein Antigen in die lymphatischen Gewebe, so kann man das Antigen sowohl intrazellulär in Phagosomen und Phagolysosomen von Makropnagen als auch an der äußeren Zellmembran gewisser zu dieser Zellklasse gehörender Zellen (19, 21), sowie auch extrazellulär in direktem Kontakt mit lymphoiden Zellen (7) nachweisen.

Nach KÖLSCH (14) wird ein Antigen zunächst phagocytiert, wobei der überwiegende Teil des Antigens in Phagolysosomen soweit abgebaut wird, daß es seine Immunogenität verliert, während ein anderer geringerer Teil des Antigens dem Abbau entgeht,und über ein sog. "Speicher-compartment" durch Exozytose die Makrophagen verläßt, um dann, an die äußere Zellmembran gebunden, in eine strategisch richtige Position gebracht, immunkompetenten lymphoidalen Zellen zur Verfügung zu stehen. (Abb. 4, S. 16)

Ist diese Vorstellung in wesentlichen Punkten richtig, so müßte eine intrazelluläre Verschiebung der in das "storage-compartment" und in die Phagolysosomen gelangenden Antigen-Anteile einen Einfluß auf die Höhe der Immunantwort ausüben.

Würde man z.B. lysosomale Membranen sprengen können, müßte ein erhöhter Abbau des Antigen zu nicht-immunogenen Bruchstücken zu erwarten sein.

Lysosomale Membranen sind sowohl in vitro als auch in vivo außerordentlich empfindlich gegen Vitamin A (23). Sowohl lysosomale Membranen von Leukozyten (10) als auch von Makrophagen (6) können durch Vitamin A geschädigt werden. Unter Vitamin A Einfluß

treten sonst lysosomal lokalisierte Enzyme in das Zytosol über. Sind diese Befunde speziell bei Makrophagen auf die in vivo Verhältnisse übertragbar, müßte Vitamin A einen Einfluß auf die Antikörper-Bildung ausüben. Aus diesem Grund sollte der Einfluß von Vitamin A auf die Antikörper-Bildung untersucht werden.

AUFGABESTELLUNG:

Es sollte der Einfluß von Vitamin A auf die Antikörper-Bildung bei Mäusen mit Hammelerythrozyten als Testantigen mit Hilfe der ZAALBERG-Technik (30) untersucht werden.

2. EXPERIMENTELLER TEIL

2.1 METHODEN

2.1.1 Tiermaterial

Als Versuchstiere dienten 6 - 8 Wochen alte spf NMRI/HAN Mäuse. Die Tiere wurden mit dem üblichen ALTROMIN R 10 Standardfutter ernährt.

2.1.2 Immunisierung

Als Antigen wurden 3 x mit phosphatgepufferter osmolarer Kochsalzlösung pH 7,2 (PBS) gewaschene Hammelerythrocyten (SRBC) verwandt. Nach Ermittlung der optimalen immunisierenden Dosis (O.i.D.) (Abb. 2) wurden die Tiere in den folgenden Versuchen mit der O.i.D. immunisiert. Die Anzahl der Immunadhärenz aufweisenden Zellen (Immunocyten) wurde mit der nach BIOZZI (2) modifizierten ZAALBERG-Technik (30) bestimmt.

Zunächst wurde das Maximum der Anzahl der immunadhärenzaufweisenden Zellen in Abhängigkeit von der Zeit in Relation zum Zeitpunkt der Immunisierung bestimmt (Abb. 3). Anschließend wurde der Einfluß des Vitamin A auf die Anzahl dieser Zellen zu diesem

optimalen Zeitpunkt und mit dieser O.i.D. an Antigen bestimmt.

2.1.3 Applizierung von Vitamin A

Vitamin A-Palmitat wurde in steigenden Dosen von 20.000 I.E./kg Maus bis 160.000 I.E./kg Maus täglich ab 4. Tag vor der Immunisierung der Tiere bis einschließlich des Tages der Immunisierung i.p. bzw. in einer anderen Versuchsreihe s.c. appliziert.

In einem anderen Fall ist Vitamin A-Palmitat in den, in den Ergebnissen angegebenen Dosierungen ab 4. Tag vor der Immunisierung bis zur Tötung der Tiere verabreicht worden.

Vitamin A-Palmitat wurde jeweils in 0,5 ml steriler physiologischer Kochsalzlösung gelöst verwandt. Zu den Versuchen ist Vitamin A-Palmitat (wasserlöslich) der Firma Hoffmann La Roche verwandt worden.

2.1.4 Bestimmung der Anzahl der immunadhärenzaufweisenden Milzzellen-Rosetten bildende Zellen (RBZ).

Prinzip:

Antikörper gegen SRBC enthaltende Milzzellen, von

mit SRBC immunisierten Mäusen, können in vitro SRBC spezifisch an ihrer Oberfläche fixieren (3, 4, 20, 30).

Bestimmt man die Anzahl der kernhaltigen Milzzellen in einer Zählkammer, so läßt sich die Anzahl der RBZ auf die gesamte Milzzellzahl oder auch der prozentuale Anteil der RBZ an den kernhaltigen Milzzellen bestimmen.

Durchführung der Bestimmung:

Nicht immunisierte, immunisierte bzw. immunisierte und mit Vitamin A-Palmitat behandelte Mäuse wurden zu den in den Ergebnissen angegebenen Zeitpunkten durch Dekapitation getötet. Nach schneller Entfernung der Milz wurde eine Milzzellsuspension (2) durch vorsichtiges Ausquetschen der Zellen aus der Kapsel in einer sterilen PBS hergestellt. Alle Operationen wurden bei 4^{o} Celsius durchgeführt. Die Suspension wurde durch ein 100 mash Stahlsieb filtriert. Die Zellen wurden dann 2 x mit je 50 ml PBS gewaschen. Die Zellen wurden dabei durch Zentrifugation bei 240 x g, 7 min. lang, zurückgewonnen. Die Zellsuspension wurde anschließend durch eine 0,4 mm Injektionskanüle gedrückt, um eine Einzelzellsuspension zu erhalten.

Anschließend wurde die Milzzellkonzentration auf 12×10^{6} kernhaltige Zellen/ml PBS eingestellt. 0,5 ml

dieser Zellsuspension wurden mit 0,05 ml homologem, vorher mit SRBC adsorbiertem Serum (2) versetzt.

Anschließend wurden 24×10^6 SRBC in 0,5 ml desselben Puffers suspendiert hinzugefügt.

Die Zentrifugengläser wurden verschlossen 12 h bei 4° C stehen gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit wurden die Zentrifugengläser mit 16 U/min. für 10 min. Kopf über Kopf rotiert. Die auf diese Weise resuspendierten Zellen wurden in NEUBAUER-Kammern eingefüllt und die Anzahl der RBZ unter dem Mikroskop ausgezählt.

Als RBZ wurden Milzzellen, welche mindestens 5 Erythrozyten an ihre Oberfläche zu binden vermögen, bezeichnet. Abb. 1 zeigt das Bild eines typischen Versuches mit RBZ in der Zählkammer. Es wurden von jeder Milz mindestens 20×10^3 Zellen durchgemustert.

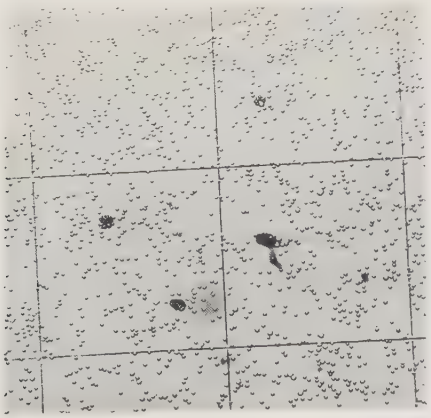

Abb. 1: Immunadhaerenzaufweisende Zellen (RBZ) in der Zählkammer nach NEUBAUER.

Berechnung:

Die Anzahl der RBZ wurde einerseits auf 1000 kernhaltige Milzzellen und andererseits auf die gesamte kernhaltige Milzzellzahl bezogen. Die Ergebnisse wurden statistisch mit dem WILCOXON-Test (29) ausgewertet. Bei jedem Tier wurde außer der Gesamtmilzzahl, welche durch Leukozytenzählung festgestellt wurde, auch das Milzgewicht registriert.

Die Methode ist nach BIOZZI (2) mit einem Fehler von $\pm$ 25 % behaftet.

3. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

3.1 VORVERSUCHE

Das Ausmaß der Antikörperbildung kann von Mäusestamm zu Mäusestamm recht unterschiedlich sein und hängt zudem vom Alter der Tiere ab, ebenso ist das Ausmaß der Antikörperbildung von der Antigendosis und vom Wege der Immunisierung abhängig (27). BIOZZI (2) hat mit erwachsenen männlichen "Swiss mice", ZAALBERG (31) mit ND 2 bzw. (DBA/2 x 57 Bl)F_1 hybrid Mäusen gearbeitet. In unserem Laboratorium stehen dagegen spf NMRI/HAN Mäuse für die Versuche zur Verfügung. BIOZZI (2) hat bei seinen Versuchen das Antigen intravenös injiziert, ZAALBERG (31) hat SRBC sowohl intravenös als auch intraperitoneal appliziert. BIOZZI (2) injizierte 10^8 SRBC intravenös, ZAALBERG (31) applizierte 1 x 10^9 SRBC sowohl i.p. als auch i.v.. Da die Antikörperbildung auch von der Antigendosis abhängt, mußte als erstes die O.i.D. und die Abhängigkeit der Immunocytenzahl (RBZ) vom Zeitpunkt der Immunisierung für den in dieser Arbeit verwendeten Mäusestamm bestimmt werden.

Abbildung 2. zeigt die Abhängigkeit der Immunocytenzahl am 5. Tag nach der Immunisierung von NMRI/HAN Mäusen in Abhängigkeit von der i.p. injizierten SRBC Dosis. Bei 6 - 8 Wochen alten NMRI/HAN Mäusen ist die O.i.D. 2 x 10^8 SRBC.

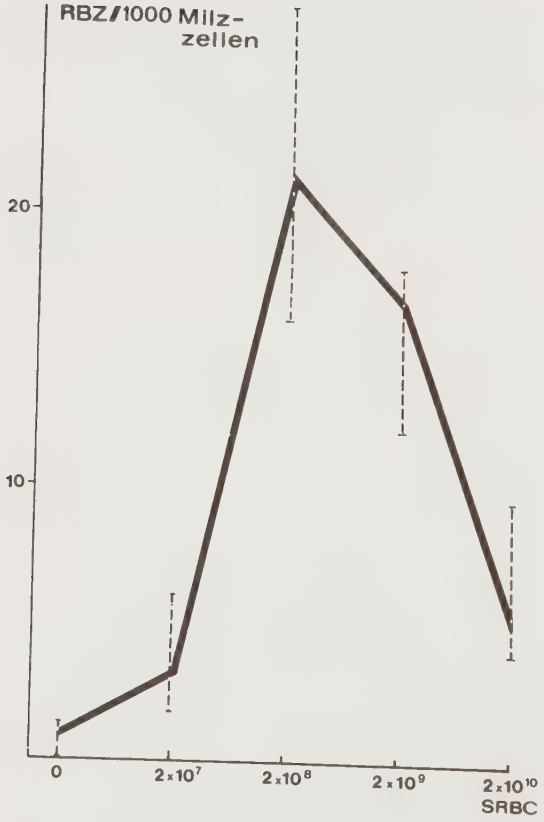

Abb. 2: Bestimmung der optimalen immunisierenden Dosis (O.i.D). Mittelwerte aus 6 Einzelwerten gebildet sowie die maximal abweichenden Einzelwerte.
Testung am 5. Tag nach Immunisierung.

Abbildung 3. zeigt die Abhängigkeit der Immunocytenzahl bei O.i.D. vom Zeitpunkt der Immunisierung. Fünf Tage nach der Immunisierung der Tiere ist das Maximum der Immunocytenzahl erreicht.

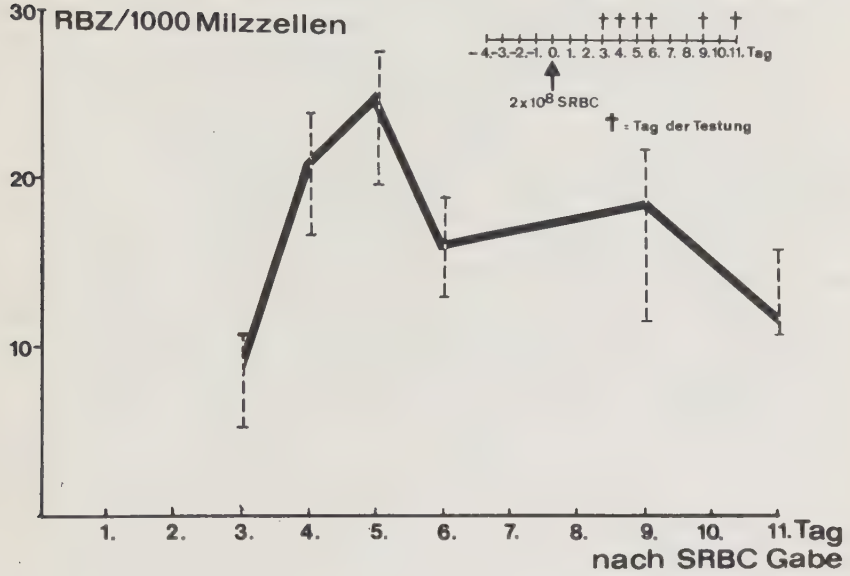

Abb. 3: Bestimmung des Maximums der immunadhaerenzaufweisenden Zellen in Abhängigkeit von der Zeit in Relation zum Zeitpunkt der Immunisierung bei O.i.D. Mittelwerte aus 6 Einzelwerten gebildet sowie die maximal abweichenden Einzelwerte.

BIOZZI (2) fand, daß nach i.v. Verabreichung von 10^8 SRBC das Maximum der Immunocytenzahl zwischen 5. und 7. Tag nach Antigengabe erreicht ist. ZAALBERG (31) fand dagegen, daß bei i.p. Verabreichung von 10^9 SRBC das Maximum der Immunocytenzahl 5 Tage nach Antigengabe erreicht ist und daß später am 9. Tag ein zweites jedoch geringeres Maximum festzustellen ist. Da ZAALBERG (31) mit einem anderen Mäusestamm und nur bei einer Antigendosis (10^9 SRBC) gearbeitet hat, ist ein direkter Vergleich der absoluten Zahl der Immunocyten bei ZAALBERG (31) mit den in dieser Arbeit gefundenen Werten nicht möglich. ZAALBERG (31) findet am 5. Tag nach der Immunisierung 33 RBZ/1000 Milzzellen, am 9. Tag 24 RBZ/1000 Milzzellen. Bei NMRI/HAN Mäusen sind bei O.i.D. am 5. Tag 27 RBZ/1000 Milzzellen und am 9. Tag 21 RBZ/1000 Milzzellen nachgewiesen worden.

3.2 UNTERSUCHUNG DES EINFLUSSES VON VITAMIN A-PALMITAT AUF DIE IMMUNOCYTENZAHL.

Nach KÖLSCH u. MITCHISON (13) und KÖLSCH (15) soll das Antigen zunächst durch Makrophagen durch Endozytose aufgenommen werden, wobei der überwiegende Teil des Antigens in Phagolysosomen durch lysosomale Enzyme zu nicht immunogenen Bruchstücken abgebaut wird. Ein gewisser von Antigen zu Antigen recht unterschiedlicher Anteil des Antigens soll dabei in ein "Speicher-compartment" in immunogener Form dem Abbau entgehen und hier gespeichert werden. Möglicherweise ist dieses "Speicher-compartment" identisch mit den sog. "residual bodies". Von diesem "Speicher-compartment" soll das Antigen dann durch Exozytose die Makrophagen verlassen, um an der äußeren Zellmembran dieser immunkompetenten lymphoidalen Zellen gebunden in strategisch richtige Position gebracht zur Verfügung zu stehen. Ein anderer Anteil des Antigens ebenfalls abhängig von der Art des Antigens soll aber auch direkt an der äußeren Zellmembran dieser besonderen Makrophagen unter Umgehung des oben beschriebenen Weges direkt an der äußeren Makrophagenmembran attachiert werden können. Dieser Antigenanteil soll den immunologisch effektiven Antigenanteil darstellen.

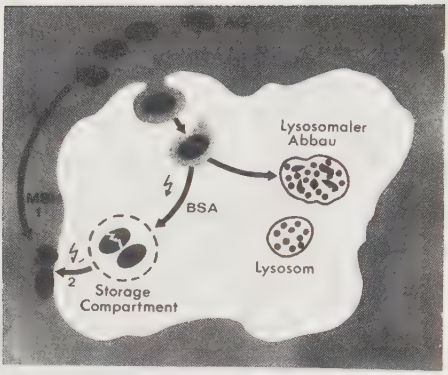

Abb. 4: Schicksal eines Antigens in Makrophagen. Schema in Anlehnung an KÖLSCH (15).
1 direkter Weg an die Makrophagen-Membran (MSH)
2 Weg über Endozytose, "storage-compartment" und Exozytose (BSA). Weg 2 ist röntgenstrahlenempfindlich.

Sind diese Vorstellung im wesentlichen richtig, so müßte die Freisetzung von lysosomalen Enzymen vor der Antigengabe die Immunogenität eines Antigens beeinflussen können; vorausgesetzt, daß der in der Abb. 4 aufgezeigte Weg 2 von dem betreffenden Antigen bevorzugt wird.

Wie schon in der Einleitung geschildert wurde kann Vitamin A sowohl in vitro wie auch in vivo lysosomale Membranen schädigen (23). Durch Einwirkung von Vitamin A treten sonst lysosomal lokalisierte Enzyme außerhalb der Lysosomen auf. Auch lysosomale Membranen von Leukozyten (10) und Makrophagen (6) werden unter Vitamin A Einfluß in vitro geschädigt, wobei ebenfalls ein Übertreten lysosomaler Enzyme in das Zytosol nachgewiesen wurde.

Danach wäre zu erwarten, daß bei mit Vitamin A vorbehandelten Tieren die sonst in das "storage-compartment" gelangenden Antigenanteile auch abgebaut würden, so daß bei einer O.i.D. an Antigen weniger effektives immunogenes Antigen zur Verfügung stände. Aus diesem Grund müßte die Verabreichung von Vitamin A zu einer Verminderung der Immunantwort führen.

Vitamin A hat nach peroraler Verabreichung bei der Ratte eine LD_{50} von 40.000 I.E./kg (22). Da in der Literatur keine Angaben über die LD_{50} von Vitamin A bei der Maus aufzufinden waren, wurde in Vorversuchen bis zu 320.000 I.E./kg Vitamin A-Palmitat für fünf Tage täglich, also in einer Gesamtdosis von 1,6 Mill. I.E./kg verabreicht. Da bei dieser Dosis 30 % der Tiere verstarben, wurde in den folgenden Versuchen den Mäusen als höchste Dosis 160.000 I.E./kg/die i.p. bzw. s.c. appliziert. Nach mehreren Autoren (1, 5, 9, 11, 14, 15, 16, 17, 18) sollen die Makrophagen in der Präinduktionsphase der Antikörperbildung eine Rolle spielen. Aus diesem Grunde wurde Vitamin A-Palmitat täglich ab 4. Tag vor der Immunisierung der Tiere bis einschließlich des Tages der Immunisierung verabreicht, um zum Zeitpunkt der Antigengabe schon die lysosomalen Enzyme aus den Lysosomen in das Zytosol überführt zu haben.

Wie die Ergebnisse in den Abbildungen 5 a und 5 b zeigen, ist kein signifikanter Einfluß von Vitamin A-Palmitat, in den Dosierungen von 20.000 I.E./kg M/d bis 160.000 I.E./kg M/d i.p. injiziert, auf die Anzahl der Immunocyten, weder auf die gesamte Milzzellzahl noch auf 1000 Milzzellen bezogen, im Vergleich zu den kontrollimmunisierten Tieren festzustellen gewesen.

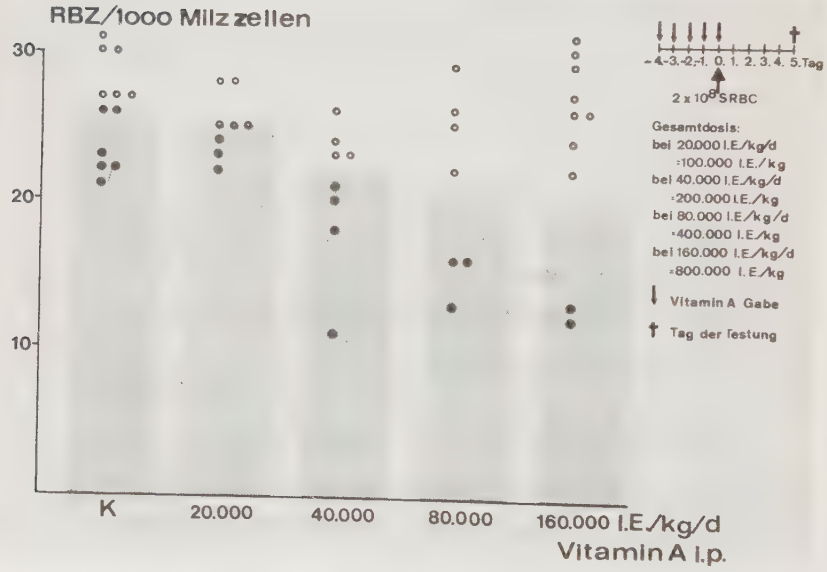

Abb. 5 a: Anzahl der RBZ auf 1000 kernhaltige Milzzellen bezogen. Mittelwerte sowie Einzelwerte. Testung am 5. Tag nach Applizierung von Vitamin A-Palmitat i.p. bei 0.i.D.

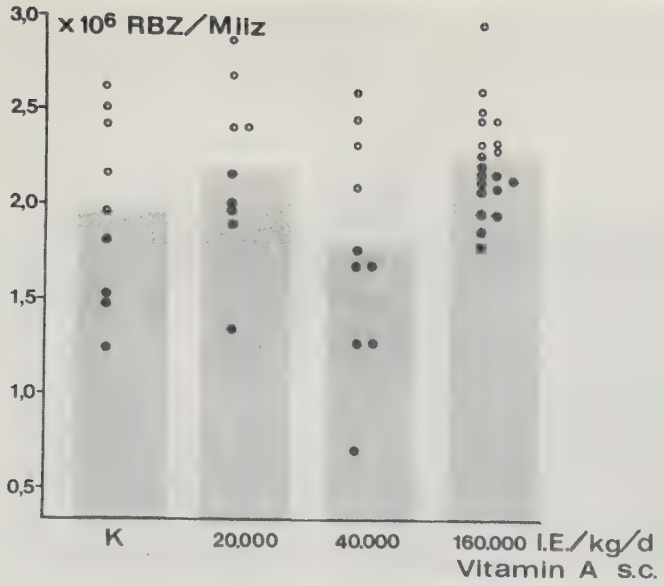

Abb. 5 b: Anzahl der RBZ auf die gesamte kernhaltige Milzzellzahl bezogen. Mittelwerte sowie Einzelwerte. Testung am 5. Tag nach Applizierung von Vitamin A-Palmitat i.p. bei O.i.D.

Wie die Abbildungen 6 a und 6 b zeigen, ist auch nach s.c. Verabreichung von Vitamin A-Palmitat kein signifikanter Unterschied zwischen Kontrolltieren und Vitamin A-Palmitat behandelten Tieren bei einer Dosierung von 20.000 I.E./kg M/d bis 160.000 I.E./kg M/d festzustellen gewesen.

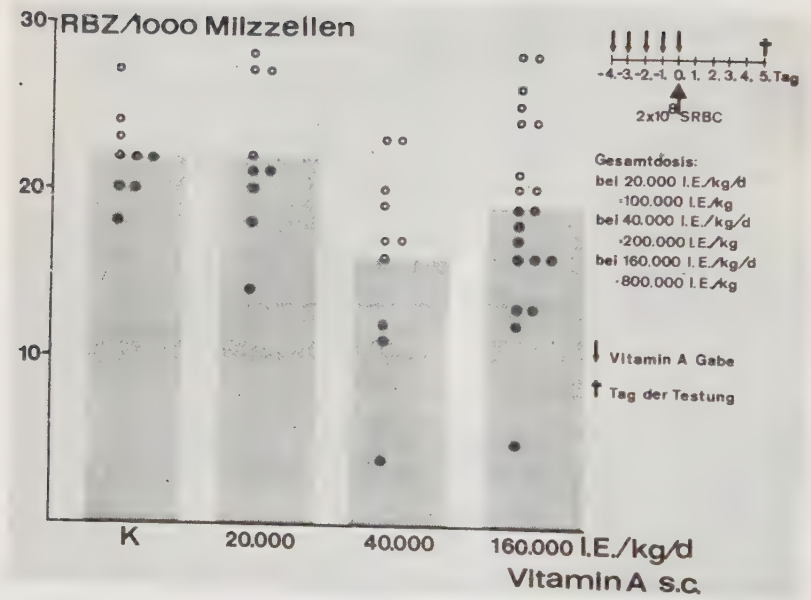

Abb. 6 a: Anzahl der RBZ auf 1000 kernhaltige Milzzellen bezogen. Mittelwerte sowie Einzelwerte. Testung am 5. Tag nach Applizierung von Vitamin A-Palmitat s.c. bei O.i.D.

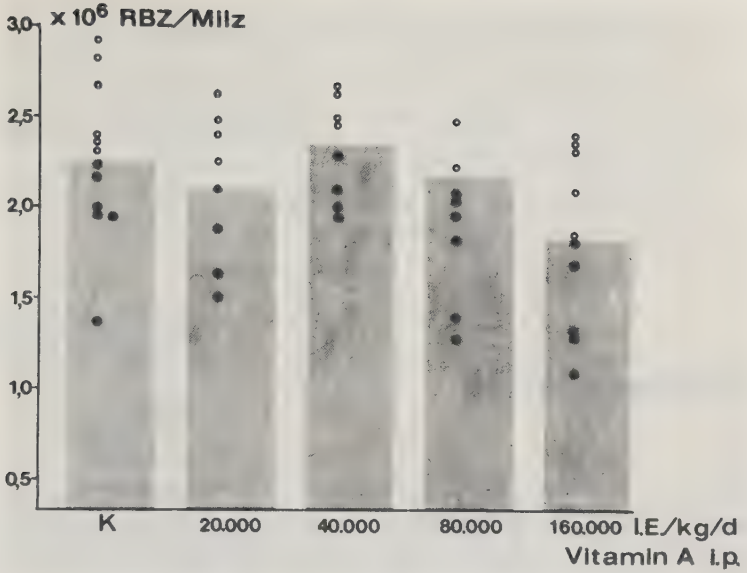

Abb. 6 b: Anzahl der RBZ auf die gesamte kernhaltige Milzzellzahl bezogen. Mittelwerte sowie Einzelwerte. Testung am 5. Tag nach Applizierung von Vitamin A-Palmitat s.c. bei O.i.D.

Da es nicht auszuschließen ist, daß die Kinetik der Immunocyten (Abhängigkeit der Anzahl der RBZ von der Zeit nach der Immunisierung in Relation zum Zeitpunkt der Immunisierung) durch Vitamin A-Palmitat beeinflußt werden kann, wurde in der folgenden Versuchsreihe der Einfluß von Vitamin A-Palmitat vom 3. bis zum 11. Tag nach der Immunisierung gegenüber immunisierten Kontrolltieren untersucht. Wie aus der Abbildung 7 hervorgeht

ist bei einer Dosierung von 160.000 I.E./kg M/d vom 3. bis zum 11. Tag zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied zwischen den immunisierten Kontrolltieren und den Tieren, denen zusätzlich Vitamin A-Palmitat verabreicht wurde, festzustellen.

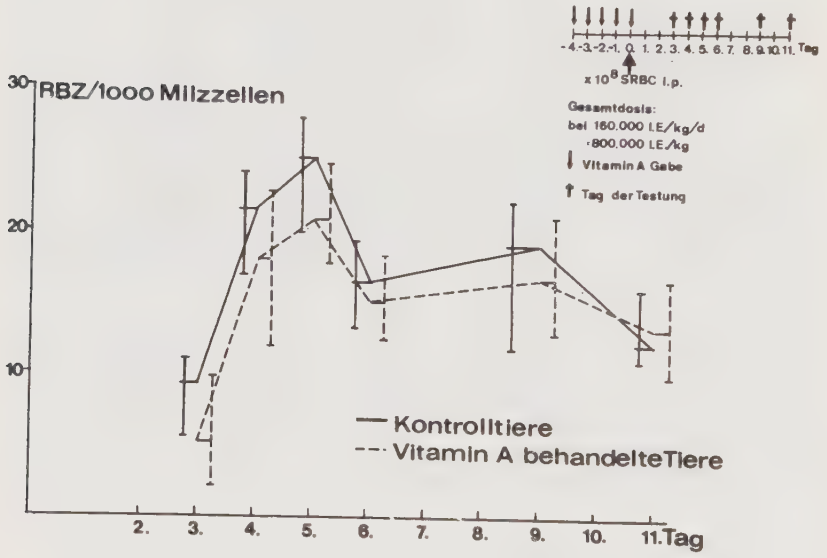

Abb. 7: Abhängigkeit der Anzahl der RBZ von der Zeit nach der Immunisierung in Relation zum Zeitpunkt der Immunisierung bei O.i.D. Kontrolltiere und i.p. Vitamin A-Palmitat behandelte Tiere; Mittelwerte aus 6 Einzelwerte gebildet sowie die maximal abweichenden Einzelwerte.

In einer letzten Versuchsreihe ist Vitamin A-Palmitat ab 4. Tag vor bis einschließlich dem 5. Tag nach der Immunisierung in einer Dosierung von 40.000 I.E./kg M/d und 160.000 I.E./kg M/d entsprechend einer Gesamtdosis von 400.000 I.E./kg M bzw. 1.600.000 I.E./kg M injiziert worden. Auch in diesem Fall ist kein signifikanter Unterschied zwischen kontrollimmunisierten Tieren und mit Vitamin A-Palmitat behandelten Tieren festzustellen gewesen (Abb. 8).

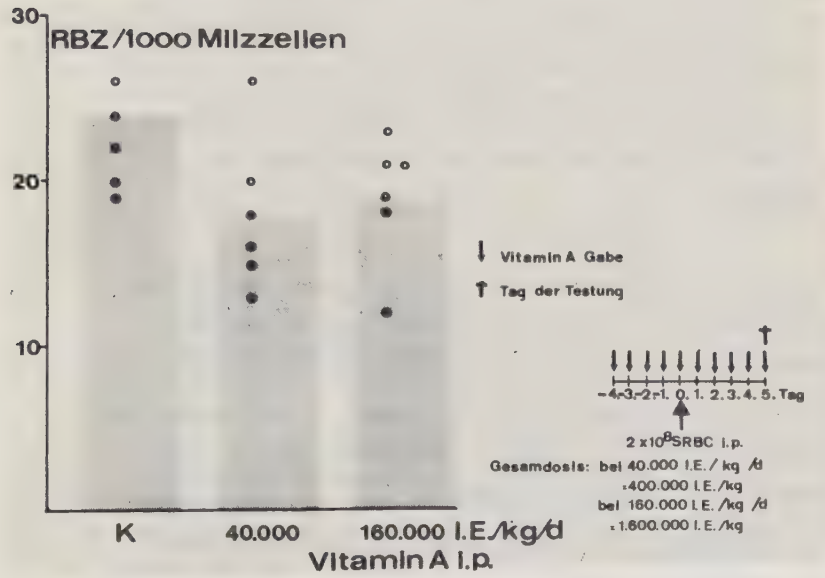

Abb. 8: Vitamin A-Palmitat über den Tag der Immunisierung hinaus bis zum Tag der Testung i.p. appliziert bei O.i.D.. Anzahl der RBZ auf 1000 kernhaltige Milzzellen bezogen. Mittelwerte und Einzelwerte.

3.3 DISKUSSION

Wenn die Antigen-Determinanten enthaltenden Bruchstücke von Hammelerythrozyten über Endozytose via "storage-compartment" und anschließende Exozytose an die äußere Zellmembran von Makrophagen attachiert würden, - ein von KÖLSCH (15) angenommener Alternativweg des Antigens in Makrophagen - wäre zu erwarten gewesen, daß die Freisetzung von lysosomalen Enzymen vor der Antigengabe zu einem erhöhten Abbau dieses komplexen Antigens zu nicht immunogenen Bruchstücken geführt hätte und damit auch weniger Antigenanteile an die äußere Zellmembran attachiert für immunkompetente Zellen verfügbar wären. Vitamin A führt sowohl in vitro wie auch in vivo (23) zur Freisetzung von lysosomalen Enzymen unter anderem auch aus den Lysosomen der Makrophagen (6).

Wie enzym-histochemische Untersuchungen gezeigt haben (8) kommt es bei den in diesen Versuchen verwendeten Dosierungen an Vitamin A auch in der Mäusemilz zur massiven Entspeicherung von Lysosomen, so daß lysosomale Enzyme bei den mit Vitamin A behandelten Tieren prinzipiell die Gelegenheit gehabt hätten, mit dem Antigen auch außerhalb von Phagolysosomen in den Makrophagen in Kontakt zu kommen.

Wie die Ergebnisse zeigen hat Vitamin A unter den in diesen Versuchen angewendeten Bedingungen keinen signifikanten Einfluß auf die Immunantwort ausgeübt. Demnach scheint der oben geschilderte Weg des Antigens via Endo- und Exozytose wenig warscheinlich zu sein. Inwieweit die mit Hammelerythrozyten erhaltenen Ergebnisse auch auf andere Antigene zu übertragen sind bleibt noch zu prüfen.

Die Immunantwort gegenüber Shigella (11) und Rinderserumalbumin (BSA) (17) ist durch Röntgenbestrahlung hemmbar. Wie Untersuchungen von KÖLSCH und MITCHISON (11, 13) gezeigt haben (Abb. 4 S.16) scheint die Röntgenbestrahlung in diesen Fällen den Weg des phagozytierten Antigens zum "storage-compartment" oder die Exocytose des sich im "storage-compartment" befindenen Antigens zu hemmen.

Nach UNANUE und ASKONAS (28) ist die Immunantwort gegen Haemocyanin von Maia squinado (MSH) dagegen nicht röntgenstrahlenempfindlich. Nach KÖLSCH (15) (Abb. 4) soll ein Antigen, je nach der Art des Antigens, entweder via Phagozytose, "storage-compartment" und Exozytose an die äußere Zellmembran als effektives Antigen attachiert werden können oder auch direkt ohne vorherige Endozytose an die äußere Zellmembran von Makrophagen gebunden werden können. MSH soll zu den Antigenen

gehören, die den zweiten, d.h. den direkten Weg bevorzugen. Deshalb soll die Immunantwort gegen MSH durch Röntgenbestrahlung nicht hemmbar sein.

Es ist bis heute nicht untersucht welcher dieser beiden Gruppen von Antigenen SRBC in dieser Hinsicht zuzuordnen ist. Aus diesem Grunde müßten, bevor eine endgültige Aussage möglich ist, ob Vitamin A prinzipiell oder nur in dem in dieser Arbeit untersuchten Fall keinen Einfluß auf die Immunantwort ausübt, die Versuche mit anderen Antigenen wiederholt werden.

4. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde der Einfluß von Vitamin A-Palmitat nach intraperitonealer und subcutaner Applikation auf die durch Hammelerythrozyten induzierte Immunantwort bei der Maus mit Hilfe der ZAALBERG-Technik (30) untersucht.

Bei Dosierungen zwischen 20.000 I.E./kg Maus pro die und 160.000 I.E./kg Maus pro die, das entspricht einer Gesamtdosis von 1000.000 I.E./kg Maus bis 800.000 I.E./kg Maus, vom 4. Tag vor bis einschließlich des Tages der Immunisierung appliziert, hat Vitamin A-Palmitat keinen signifikanten Einfluß auf die Immunantwort gezeigt. Die Untersuchungen lassen vermuten, daß der von KÖLSCH (15) für BSA angenommene Weg des Antigens via Exozytose, "storage-compartment" und Endozytose zu effektivem an die äußere Makrophagenmembran gebundenen Antigen für Hammelerythrozyten als Antigen bei der Maus nicht zutrifft.

5. LITERATURVERZEICHNIS

1) ASKONAS B.A. and RHODES I. :Immunogenicity of Antigen Containing RNA Preperation from Macrophages.
Nature (Lond.) 205, 470 (1965)

2) BIOZZI G., STIFFEL C. and MOUTON D. :A Study of Antibody-Containing Cells in The Course of Immunisation.
Immunitiy, Cancer and Chemotherapy. Basic Relationships on The Cellular Level.
Edited by Enrico Mihich.
Academic Press, New York and London (1967) S. 103

3) BIOZZI G., STIFFEL C. and MOUTON D. Round Table Conf. Immunol. Methods, Royaumont, France (1965), in press
Zitiert in:
Biozzi G., Stiffel C. and Mouton D.
A Study of Antibody-Containing Cells in The Course of Immunisation.
Immunity, Cancer and Chemotherapy. Basic Relationships on The Cellular Level.
Edited by Enrico Mihich.
Academic Press; New York and London (1967)

4) BIOZZI G., STIFFEL C., MOUTON D., LIACOPOULOS-BRIOT M., DECREUSEFOND C. and BOUTHILLIER Y. :Zitiert in: Biozzi G., Stiffel C. and Mouton D. A Study of Antibody-Containing Cells in The Course of Immunisation. Immunity, Cancer and Chemotherapy. Basic Relationships on The Cellular Level. Edited by Enrico Mihich. Academic Press, New York and London (1967)

5) BRAUN W. :in: Nucleic Acids in Immunology. Editors: Plescia O. J. and Braun W. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg-New York (1968)

6) DIAMANTSTEIN T. und GROSS R. :Einfluß von Vitamin A auf die intrazelluläre Verteilung von Enzymen in Makrophagen. Vitamin A, E und K, Klinische und Physiologische Probleme. Symposion der I. Med. Klinik der FU Berlin F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart-New York (1969), S. 95

7) DIAMANTSTEIN T., WAGNER B. und KAYSERLINGK D. :Extracellular Localisation of a Protein Antigen in Lymphatic Tissue in Contact with Lymphocytes. Experimentia 25, 1189 (1969)

8) DIAMANTSTEIN T. :persönliche Mitteilungen; unveröffentlicht

9) FISHMAN M. and ADLER F.L. :The Role of Macrophages-RNA in The Immune Response. Cold Spring Harbor Symposion. Quant. Biol. 32, 431 (1967)

10) FRIMMER M. und GRIES J. :Wirkung der Vitamine A und E auf biologische Membranen. Vitamin A, E und K, Klinische und Physiologische Probleme. Symposion der I. Med. Klinik der FU Berlin. F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart-New York (1969), S. 79

11) GALLILY R. and FELDMAN M. :The Role of Macrophages in The Induction of Antibody Formation in X-Irradiated Animals. Immunology 12, 197 (1967)

12) JACHERTZ D. :Replicase, an Enzyme for Multiplication of Informational RNA. Antibody Workshop Meeting. The Structure, Genetics and Formation of Antibodies. July 16th - 19th, Kronberg (1969) Behringwerk-Mitteilungen Heft 49, S. 147 Verlag N.G. Elwert Universitätsbuchhandlung, Marburg/Lahn (1969)

13) KÖLSCH E. and MITCHIHISON N.A. :The Subcellular Distribution of Antigen in Macrophages. J. exp. Med. 128, 1059 (1968)

14) KÖLSCH E. :Macrophages: Cooperating Cells with a Limitated Discrimination for Antigen. Antibody Workshop Meeting. July 16th - 19th, Kronberg (1969) Behringwerk-Mitteilungen Heft 49 S. 195 Verlag N.G. Elwert Universitätsbuchhandlung, Marburg/Lahn (1969)

15) KÖLSCH E. :Patterns of Handling and Presenting Antigen by Macrophages. Conference on Mononuclear Phagocytes. Leiden, September 2nd - 5th, (1969) Proceeding of The Conference. Blackwell Scientific Publications. (in press)

16) MITCHISON N.A. :Antigen Recognition Responsible for The Induction in vitro of The Secondary Response. Cold Spring Harbor Symposion. Quant. Biol. 32, 431 (1967)

17) MITCHISON N.A. :The Immunogenic Capacity of Antigen Taken up by Peritoneal Exudate Cells. Immunology 16, 1 (1969)

18) NELSON D.S. :Frontiers of Biology Vol. 11 Macorphages and Immunity. Editors: Neuberger A., Tatum E.L. and Holborow E.J. North Holland Publishing Comp. Amsterdam-London (1969)

19) NOSSAL G.J.V., ABBOT A. and MITCHELL J. :Antigens in Immunity XIV, Electromicroskopic Radioautographic Studies of Antigen Capture in The Lymph Node Medulla. J. Exptl. Med. 127, 263 (1968)

20) NOTA N.R., LIACOPOULOS-BRIOT M., STIFFEL C. and BIOZZI G.
:Compt. Rend. 259, 1277 (1964)
zitiert in:
Biozzi G., Stiffel C. and Mouton D.
A Study of Antibody-Containing Cells in The Course of Immunisation.
Immunity, Cancer and Chemotherapy. Basic Relationships on The Cellular Level.
Edited by Enrico Mihich.
Academic Press, New York and London (1967)

21) PERKINS E.H. and Maki-NODAN T.
:The Suppressiv Role of Mouse Peritoneal Exudate Phagocytes on Immune Response.
J. Immunol. 94, 765 (1969)

22) RAUEN H.M.
:Biochemisches Taschenbuch II. Teil
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg-New York (1964)
S. 663

23) ROELS O.A.
:The Influence of Vitamin A and E on Lysosomes.
Lysosomes in Biology and Patology.
Editors: Dingle J.T. and Fell H.B.
Vol.I S. 254
North Holland Publishing Comp.
Amsterdam-London (1969)

24) SABET T.Y., NEWLIN C. and FRIEDMAN H.
:Effects of RES 'Blockade' on Antibody Formation.
I. Suppressed Cellular and Humoral Haemolysin Response in Mice Injected with Carbon Particles.
Immunology 16, 433 (1969)

25) SABET T.Y. and FRIEDMAN H. :Effects of RES 'Blockade' on Antibody Formation.
II. Cytokinetics of The Secondary Haemoloysin Response and Suppressed Immunological "Memory" in Mice Treated with Carbon Particles.
Immunology 17, 535 (1969)

26) SELA M. :Antigens and Antigenicity.
Naturwissenschtn. 56, 206 (1969)

27) STEFFEN C. :Allgemeine und experimentelle Immunologie sowie ihre klinische Anwendung.
Faktoren, welche die Antikörperbildung beeinflussen.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1968) S. 68

28) UNANUE E.R. and ASKONAS B.A. :The Immune Response of Mice to Antigen in Macrophages.
Immunology 15, 287 (1968)

29) WILCOXON - TEST :Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen.
J.R. Geigy S.A., Basle-Switzerl.
6. Auflage 170.23 (1962)

30) ZAALBERG O.B. :A Simple Method for Detecting Single Antibody-Forming Cells.
Nature 202, 1231 (1964)

31) ZAALBERG O.B., VAN DER MEUL V.A. and VAN TWISK J.M. :Antibody Production by Single Spleen Cells: A Comperative Study of The Cluster and Agar-Plaque Formation.
Nature 210, 544 (1966)

Herrn Professor Dr. rer. nat. Tibor Diamantstein danke ich für die Überlassung des Themas, unter dessen Leitung auch die vorliegende Dissertation angefertigt wurde.

LEBENSLAUF

Am 24. November 1940 wurde ich als Sohn des Dipl. Ing. Kurt Mann und seiner Ehefrau Dr.med. Marie Luise, geb. Ackermann, in Hamburg geboren.

Nach der Versetzung meines Vaters im Jahre 1955 nach Wuppertal legte ich im Frühjahr 1961 am dortigen altsprachlichen, humanistischen Wilhelm-Dörpfeld-Gymnasium die Reifeprüfung ab.

Mein Medizinstudium begann ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München. Dort legte ich im Frühjahr 1962 die naturwissenschaftliche und im Herbst 1963 die ärztliche Vorprüfung ab. Nach einem Semester an der Christian-Albrechts-Universität in Kiel und einem Semester an der medizinischen Fakultät der Universität Toulouse bestand ich nach weiteren vier Semestern an der Ludwig-Maximilians-Universität in München die ärztliche Prüfung.

Meine Medizinalassistentenzeit leistete ich an verschiedenen Kliniken in Hannover ab.

Die Bestallung als Arzt wurde mir am 31. März 1969 vom Bayerischen Staatsministerium des Innern erteilt.

Seit dem 1. April 1969 bin ich als Assistent an der Hals-Nasen-Ohrenklinik und Poliklinik der Freien Universität Berlin, kommissarischer Direktor Herr Professor Dr.med. Klaus Walter Hommerich, tätig.

Unter der Leitung von Herrn Professor Dr.rer.nat. Tibor Diamantstein arbeite ich in dieser Klinik auf dem Gebiet der Immunologie.

Druck: Dissertationsdruckstelle, 1 Berlin 33